

Р.М. СМОЛЯКОВА, В.И. ПРОХОРОВА,
В.В. ЖАРКОВ, С.В. ЛАППО

ОЦЕНКА СВЯЗЫВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ И ТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

НИИ онкологии и медицинской радиологии
им. Н.Н. Александрова, Беларусь

У больных раком легкого выявлены локальные нарушения структурно-динамического состояния и связывающей способности сывороточного альбумина, которые характеризуются повышением удельной емкости I-го центра связывания и снижением емкости II-го центра, уменьшением внутримолекулярных объемов с увеличением полярности и микровязкости, падением конформационной подвижности и связывающей способности. Прогрессирование опухолевого процесса и развитие осложнений усугубляют степень конформационных нарушений структуры и функции сывороточного белка. Степень тяжести состояния больных раком легкого коррелирует со степенью нарушения связывающей способности и транспортной функции сывороточного альбумина.

Возникновение и рост злокачественной опухоли оказывает системное воздействие на организм-опухоленоситель, которое характеризуется деспециализацией органов и тканей, нарушениями липидного, белкового, углеводного обмена, что приводит к повышенному содержанию в организме продуктов незавершенного метаболизма, активированных ферментов, компонентов деградации нормальных тканевых структур, обладающих антигенными свойствами. Комплекс метаболических нарушений и неспецифических клинических проявлений, которые сопровождают развитие злокачественного новообразования, можно характеризовать как синдром эндогенной интоксикации (СЭИ) онкологических больных. В зависимости от лока-

лизации и степени распространенности опухолевого процесса, токсические проявления отмечаются у 70-80% онкологических больных [2, 3].

Токсемический синдром вызывает ухудшение общего состояния больных, затрудняет проведение в полном объеме специальных методов лечения и в значительной степени определяет прогноз заболевания. В связи с этим становится очевидным, что успех лечения пациентов со злокачественными новообразованиями зависит не только от эффективности противоопухолевой терапии, но и от своевременной коррекции возникающих осложнений. Поэтому в комплексном лечении онкологических больных важное место занимает оценка выраженности СЭИ и инфузионно-детоксикационная терапия, включающая в себя инфузионную терапию, методы неактивной (УФОК, энтеросорбция) и активной (гемодиализ, плазмасорбция, лечебный плазма- и цитаферез) экстракорпоральной детоксикации.

Основными системами связывания и транспорта веществ различной химической природы в организме являются плазменные белки, форменные элементы крови, иммунные антитела, буферные системы. Сывороточный альбумин (САЧ) является одной из основных внеклеточных транспортных систем организма, связывает с высоким сродством на своей поверхности высокотоксичные гидрофобные соединения и препятствует генерализации процесса интоксикации. Нарушение структурной организации и функциональной активности САЧ приводит к изменению объема транспорта различных метаболитов и, в первую очередь, жирных кислот, что является важным звеном перестройки энергетического метаболизма при росте злокачественной опухоли [5, 7, 13, 19]. Количественное определение связывающей способности и функциональной активности САЧ является эффективным показателем степени выраженности СЭИ и назначения корригирующей детоксикационной терапии. Целью исследования явилась оценка связывающей способности и транс-

портной функции сывороточного альбумина у больных раком легкого.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили данные о 88 больных с впервые установленным диагнозом рака легкого (РЛ) I-IV стадии. Диагноз РЛ был поставлен на основании клинико-рентгенологических, эндоскопических методов исследования с обязательной морфологической верификацией. В группе больных РЛ у 22 пациентов выявлен мелкоклеточный рак (МРЛ), у 66 – немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ). У пациентов с НМРЛ преобладающей морфологической формой опухоли был плоскоклеточный рак (71,2%).

Анализ распределения контингента больных РЛ показал, что к моменту лечения I ст. имели 18 (20,5%) пациентов, II ст. – 16 (18,52%), III "А" ст. – 25 (28,4%), III "В" ст. – 14 (15,9%), IV ст. – 15 (17%).

Средний возраст больных РЛ составил $58,4 \pm 0,6$ лет.

Из 44 радикально прооперированных больных РЛ у 13 (29,35%) произведена лобэктомия, у 31 (70,5%) – пульмонэктомия, пробная торакотомия выполнена 3 больным. Из обследованных 88 больных 27 (30,7%) пациентов с РЛ имели осложнения основного заболевания или специального лечения: плеврит – у 5 (18,5%), ателектаз с нагноением – у 6 (22,2%), пневмония – у 5 (18,5%), микровищ культи бронха – у 3 (11,1%), синдром сдавления верхней полой вены – у 1 (3,7%), тромбоэмболия легочной артерии – у 1 (3,7%), осумкованный гидропневмоторакс – у 1 (3,7%), эзофагит – у 1 (3,7%), почечно-печеночная недостаточность – у 1 (3,7%), сердечно-легочная недостаточность – у 1 (3,7%), паранеопластическая энцефалопатия I ст. – у 2 (7,5%).

Группу сравнения составили 50 клинически здоровых лиц.

Методом зондовой электронной пармагнитно-резонансной (ЭПР) спектроскопии исследованы отдельные физико-химические параметры конформационно-

динамического состояния и транспортной функции САЧ: удельная емкость (C_1) I-го и II-го (C_2) центров связывания, внутримолекулярные объемы (V_1) I-го и II-го (V_2) центров, величина упорядоченности (S), конформационная подвижность (ширина центральной – ШЦЛ₁, высокополевой – ШВЛ₁, низкополевой – ШНЛ₁ спектральных линий) в I-м и II-м (ШЦЛ₂, ШВЛ₂, ШНЛ₂) центрах, интегральный ЭПР-параметр альфа (ЭПР- α). Метод определения и расчета параметров спектров ЭПР нитроксильных зондов, иммобилизованных в центрах связывания САЧ представлен в работе [7]. В качестве спинного зонда использовалась 16-доксилстеариновая кислота (16-ДСК) фирмы "Sigma".

Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность антиоксидантной защиты организма определяли спектрофлуориметрическими методами: малоновый диальдегид (МДА) – по методу Т.Н. Федоровой [11]; ретинол и токоферол – по методу Р.Ч. Черняускене [12].

Исследуемые показатели изучали до начала лечения, на 3, 14-е сутки после операции.

Результаты исследований обработаны методом вариационной статистики с расчетом средней арифметической (\bar{X}), среднеквадратичного отклонения (σ), ошибки средней арифметической (S_x) с помощью пакета прикладных программ "Statistica", а также пакета анализа Microsoft Excel на IBM "Pentium". Достоверность выявляемых различий вычисляли по t -критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенными исследованиями (табл. 1) установлено повышение удельной емкости I-го центра связывания ($0,542 \pm 0,001$ отн. ед.) молекулы сывороточного альбумина в группе больных РЛ по сравнению с величиной ($0,487 \pm 0,003$ отн. ед.) у клинически здоровых лиц ($p < 0,05$). Удельная емкость II-го центра ($0,438 \pm 0,002$ отн. ед.) у больных РЛ ниже,

чем в группе сравнения ($0,485 \pm 0,004$ отн. ед., $p < 0,05$). Результаты исследования показали, что у больных РЛ наблюдалось уменьшение внутримолекулярных объемов I-го и II-го центров связывания ($16,18 \pm 0,007$ и $14,34 \pm 0,009$ Э соответственно), по сравнению с таковыми у доноров ($16,52 \pm 0,003$ и $14,82 \pm 0,001$ Э соответственно, $p < 0,05$). САЧ представляет собой гибкую динамическую структуру, тип и степень внутренней подвижности и функциональной активности которой моделируется состоянием центров связывания.

При сопоставлении величины упорядоченности в центрах связывания биомолекулы альбумина наблюдалось возрастание полярности и микровязкости у больных РЛ ($1,36 \pm 0,0017$ отн. ед.) по отношению к значению параметра в группе доноров ($1,24 \pm 0,0013$ отн. ед.). Локальные изменения конформации САЧ сопряжены со снижением конформационной подвижности центров связывания в отдельности и белкового биополимера в целом. Среднестатистические значения высокополевой ($3,58 \pm 0,014$ Э), центральной ($2,69 \pm 0,021$ Э), низкополевой ($2,55 \pm 0,021$ Э) спектральных линий в I-м центре связывания альбумина в группе больных РЛ превышали величины аналогичных показателей ($2,84 \pm 0,011$; $2,50 \pm 0,022$ и $2,18 \pm 0,011$ Э соответственно) в группе клинически здоровых лиц ($p < 0,05$). Во II-м центре связывания молекулы сывороточного альбумина у пациентов с РЛ отмечено повышение значений параметров высокополевой ($7,82 \pm 0,015$ Э), центральной ($3,35 \pm 0,025$ Э), низкополевой ($4,39 \pm 0,019$ Э) спектральных линий, по сравнению с таковыми ($7,32 \pm 0,009$; $3,03 \pm 0,001$ и $4,09 \pm 0,003$ Э соответственно) у доноров ($p < 0,05$).

Исследования, проведенные в сравнительном аспекте, позволили установить наиболее значимые различия в значениях интегрального ЭПР-параметра α в изучаемых группах. Величина ЭПР- α в спинечной крови больных РЛ ($2,003 \pm 0,18$ отн. ед.) в 2,1 раза была выше, чем у клинически здоровых лиц ($0,952 \pm 0,21$ отн. ед., $p < 0,05$).

Легкое представляет собой полифункциональный мембранный комплекс, внешняя поверхность которого постоянно контактирует с инициаторами перекисного окисления липидов: кислородом, озоном, двуокисью азота. В норме свободнорадикальные процессы протекают на стационарно низком уровне. Содержание продуктов ПОЛ в норме компенсировано активностью антиоксидантной системы защиты организма. Нарушение баланса между интенсивностью действия проокислительных факторов и мощностью антиоксидантной системы клетки, приводящее к повышенной активации процессов ПОЛ – окислительному стрессу, является выраженным патогенетическим фактором при РЛ.

Согласно полученным данным, у больных РЛ наблюдалась интенсификация процессов липопероксидации с повышением уровня МДА ($7,4 \pm 0,50$ усл. ед./мл) в 2 раза, по сравнению со значением показателя ($3,6 \pm 0,2$ усл. ед./мл) в группе доноров ($p < 0,05$). Наряду с активацией процессов ПОЛ у исследуемых больных отмечено снижение активности системы антиоксидантной защиты организма. Концентрация ретинола у больных РЛ снижена на 57,1% по сравнению с таковой у здоровых лиц ($p < 0,05$). При РЛ уровень токоферола на 56,8% ниже, чем у доноров ($p < 0,05$).

Мониторинг ближайшего послеоперационного периода (3, 14-е сутки) у больных РЛ при благоприятном течении заболевания выявил увеличение удельной емкости I-го центра связывания при параллельном снижении значений показателя во II-м ($p < 0,05$). Развитие осложнений различной этиологии у больных РЛ сопровождалось повышением на 108,3% удельной емкости I-го центра связывания и уменьшением на 82,2% емкости II-го, по сравнению с исходными данными ($p < 0,05$).

Для посттерапевтического периода в изучаемой группе больных установлена тенденция к увеличению объемов внутримолекулярного распределения в I-м и II-м центрах связывания молекулы САЧ. У больных РЛ с усугублением тяжести состояния, обусловленного основным заболеванием и развившимися осложнениями,

наблюдалось снижение внутримолекулярных объемов на 97% в I-м и на 95% во II-м центрах связывания по отношению к таковым в исходном состоянии ($p < 0,05$).

Хирургическое лечение у больных РЛ в объеме лоб- и пульмонэктомии сопровождалось повышением показателя микровязкости на 3-и сутки и постепенным снижением значений параметра к 14-м суткам послеоперационного периода в центрах связывания САЧ. Повышенное образование и поступление в кровяное русло медиаторов воспаления, продуктов свободнорадикального окисления и протеолиза при развитии осложнений у больных РЛ приводило к повышению параметра полярности и микровязкости у 78,9% пациентов ($p < 0,05$). Радикальное хирургическое лечение пациентов с РЛ при благоприятном течении послеоперационного периода способствовало повышению конформационной подвижности и лабильности центров связывания молекул САЧ, что характеризовалось снижением значений высокополевых, центральных, низкополевых спектральных линий. Напротив, возникновение осложнений и развитие СЭИ у больных РЛ вызывало уменьшение конформационной подвижности в центрах связывания белкового биополимера с увеличением показателей высокополевой линии на 110%, центральной на 103%, низкополевой на 105% в I-м центре связывания при тождественном изменении аналогичных параметров во II-м. Величина интегрального спектроскопического показателя ЭПР- α возросла ($3,358 \pm 0,16$ отн. ед.) в 2 раза на 3-и сутки с последующим ее снижением ($2,519 \pm 0,010$ отн. ед.) к 14-м суткам после операции по отношению к таковой в исходном периоде ($p < 0,05$). У пациентов с РЛ, имеющим осложнения, уровень ЭПР- α увеличился ($6,685 \pm 0,38$ отн. ед.) в 3,3 раза, по сравнению с наблюдаемым значением ($2,003 \pm 0,18$ отн. ед.) до лечения ($p < 0,05$). Хирургическое лечение больных РЛ сопряжено с незначительной тенденцией к снижению содержания МДА ($6,8 \pm 0,4$ усл. ед./мл) на 3-и сутки и последующим увеличением значений показателя ($7,9 \pm 0,4$ усл. ед./мл) к 14-м суткам после-

операционного периода. Показатели неферментативного звена антиоксидантной системы имели тенденцию к повышению в ближайшие сроки до значений, наблюдаемых в исходном периоде ($p < 0,05$).

Возникновение осложнений у больных РЛ сопровождалось повышением концентрации МДА на 133% и падением уровней ретинола ($0,63 \pm 0,015$ мкмоль/л) в 1,9 раза и токоферола ($6,5 \pm 1,3$ мкмоль/л) в 1,4 раза по отношению к таковым в исходном состоянии.

В целом, представленные данные свидетельствуют о том, что у больных РЛ имеет место нарушение структурно-динамического состояния и транспортной функции белка плазмы крови альбумина. Согласно современным представлениям, в механизмах развития злокачественных новообразований важная роль отводится изменению количества и химической структуры белков плазмы крови [8, 10, 16, 17]. В последние десятилетия, благодаря использованию современных физико-химических и молекулярно-генетических методов исследования, удалось выявить не химический вид патологических изменений в молекулах белков, а именно физико-химическую природу их нарушений. Рядом авторов [3, 5, 7, 14, 15] высказывается предположение, что при многих патофизиологических состояниях организма первичная, генетически заданная структура белковых молекул не изменена, последующая химическая модификация их в организме находится в пределах нормы, однако нарушена вторичная и/или третичная структура (конформация) белка. Концептуальными являются положения, выдвинутые Г.Е. Дорецовым и Ю.А. Грызуновым [3, 5], в которых указывается, что развитие острых критических состояний организма вызывает быстрое изменение молекул альбумина (в течение 2-3 дней, иногда часов) и в подобных ситуациях существенной химической модификации связывающих центров не происходит. Действительно, синтез САЧ "de novo" осуществляется в течение 15-20 дней и изменение полипептидной цепи белка вряд ли возможно. Неоднозначным, по нашему мнению,

является решение вопроса о природе физико-химических нарушений конформационного состояния и связывающей способности САЧ у пациентов с длительно текущими хроническими заболеваниями различной этиологии и у больных со злокачественными новообразованиями. Доказано, что рост злокачественной опухоли сопро-

ламинов, стимулирующих катаболизм тканевых белков и индуцирующих глюко-неогенез.

В связи с изложенным следует отметить, что САЧ обладает высокими пластическими свойствами, т.к. содержит почти все аминокислоты. В процессе метаболических превращений на фоне дефицита

Таблица 1.

Динамика физико-химических параметров спин-меченого САЧ и ПОЛ-АОС в крови клинически здоровых лиц и больных РЛ при мониторинге лечения ($X \pm Sx$)

Показатели	Доноры	Исходные данные	3-и сутки после операции	14-е сутки после операции	При развитии осложнений
C ₁ , отн. ед.	0,487±0,003	0,542±0,001+	0,563±0,005*	0,556±0,008	0,587±0,007**
C ₂ , отн. ед.	0,485±0,004	0,438±0,002+	0,396±0,012*	0,420±0,018	0,360±0,022*
V ₁ , Э	16,52±0,003	16,18±0,007+	16,07±0,021	16,23±0,025	15,78±0,032**
V ₂ , Э	14,82±0,001	14,34±0,009+	14,18±0,042	14,42±0,052	13,96±0,043**
S, отн. ед.	1,24±0,0013	1,36±0,0017	1,39±0,0015	1,33±0,0025	1,42±0,0021
ШВЛ ₁ , Э	2,84±0,011	3,58±0,014+	3,77±0,023*	3,42±0,028	3,95±0,019**
ШЦЛ ₁ , Э	2,50±0,012	2,69±0,021+	2,84±0,032*	2,55±0,028	2,78±0,017
ШНЛ ₁ , Э	2,18±0,011	2,55±0,021+	2,78±0,035*	2,48±0,053	2,68±0,034
ШВЛ ₂ , Э	7,32±0,019	7,82±0,015+	7,88±0,019	7,57±0,048	8,04±0,033**
ШЦЛ ₂ , Э	3,03±0,001	3,35±0,025+	3,42±0,042	3,29±0,037	3,67±0,062**
ШНЛ ₂ , Э	4,09±0,003	4,39±0,019+	4,42±0,028	4,21±0,032	4,62±0,027**
ЭПР-а, отн. ед.	0,952±0,21	2,003±0,18+	2,459±0,14*	2,289±0,10	6,685±0,38**
МДА, усл. ед./мл	3,6±0,20	7,4±0,50+	6,9±0,60	7,8±0,42	9,85±0,23**
A, мкмоль/л	2,1±0,10	1,2±0,09+	0,9±0,12	1,4±0,21	0,63±0,15**
E, мкмоль/л	19,0±0,30	8,9±0,80+	10,3±0,93	12,2±1,0	6,5±1,3**

Примечания: 1. + - достоверность различий между группой доноров и группой больных РЛ;
2. * - достоверность различий между исходными данными и данными на 3-и сутки ($p < 0,05$);
3. ** - достоверность различий между исходными данными и данными при осложнениях ($p < 0,05$).

вождается мобилизацией липидов в опухолевую ткань, интенсификацией свободно-радикальных реакций, усилением процессов ПОЛ с повышенным выходом в кровяное русло токсичных липопероксидов. Развитие злокачественной опухоли индуцирует резкое увеличение катаболических реакций вследствие азотистого "голодания" тканей из-за конкуренции опухоли за источники азота в организме "хозяина". Отмечено увеличение продукции катехо-

азота аминокислоты альбумина быстро включаются в состав белков плазмы. Кроме того, САЧ обладает антикатаболическим действием. Молекулы сывороточного альбумина способны образовывать с эндогенными токсинами комплексные ассоциаты, в виде которых происходит их элиминация к органам детоксикации. Связывающая способность альбумина распространяется на токсические вещества, находящиеся в межклеточных пространствах.

Дезинтоксикационный эффект САЧ обусловлен его способностью вызывать гемодилюцию и улучшать процессы микроциркуляции. Вместе с тем, результаты проведенных исследований и данные литературы [1, 4, 6, 9, 18, 20] свидетельствуют о том, что при значительном образовании и поступлении в кровяное русло эндогенных гидрофобных и амфифильных токсинов, продуктов метаболизма самой опухоли происходит увеличение пула несвязанных эндотоксинов наряду со снижением транспортных "емкостей" и связывающей способности молекул САЧ. Углубленный анализ физико-химических параметров центров связывания молекул сывороточного альбумина показал, что повышенное содержание в крови эндотоксинов у больных РЛ приводит к модификации центров связывания, что проявляется повышением удельной емкости I-го центра при сопряженном снижении емкости II-го. Локальные изменения конформации белкового биополимера характеризуются уменьшением объемов внутримолекулярного распределения в центрах связывания с возрастанием в них полярности и микровязкости. Состояние белковой транспортной системы зависит от лабильности сывороточного альбумина, которая определяется молекулярной подвижностью отдельных фрагментов молекулы. При РЛ установлено снижение конформационной подвижности в центрах связывания САЧ, что обусловлено аллостерическими изменениями центров связывания при повышенном содержании несвязанных эндогенных продуктов метаболизма. О нарушении связывающей способности и функциональной активности САЧ у больных РЛ, особенно при развитии осложнений, указывают данные по возрастанию интегрального ЭПР-параметра α и увеличению концентрации высокотоксичного МДА, в частности.

ВЫВОДЫ

1. У больных РЛ выявлены локальные нарушения конформационного состояния и функциональной активности

САЧ, которые характеризуются уменьшением внутримолекулярных объемов центров связывания, ростом полярности и микровязкости, снижением конформационной подвижности, падением связывающей способности, повышением концентрации МДА и падением уровня ретинола и токоферола.

2. При радикальном хирургическом лечении у больных РЛ в ближайшем послеоперационном периоде отмечена положительная тенденция к восстановлению физико-химических свойств и транспортной функции САЧ, нормализации баланса ПОЛ-АОС.

3. Развитие осложнений основного заболевания или специального лечения у пациентов, страдающих РЛ, сопряжено с выраженными глубокими нарушениями конформационного состояния и функциональной активности сывороточного альбумина, повышением содержания в плазме крови МДА и снижением концентрации ферментативных антиоксидантов ретинола и токоферола. Эффективная комплексная детоксикационная терапия способствует восстановлению связывающей способности сывороточного альбумина и баланса ПОЛ-АОС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айтаков З.Н., Михайловский А.А. // Рос. онколог. журн. – 1999. – № 3. – С. 14–17.
2. Гаврилов В.Б., Бидула М.М., Фурманчук Д.А. и др. // Клин. лаб. диагностика. – 1999. – № 2. – С. 13–17.
3. Грызунов Ю.А., Иванов А.И., Белова Е.С. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. – М., 1994. – С. 93–96.
4. Демидчик Ю.А., Жарков В.В., Курчин В.П. // Клиническая онкология: Сб. науч. работ. – Минск, 1999. – С. 93–102.
5. Добрецов Г.Е. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. – М., 1994. – С. 28–32.
6. Жарков В.В., Курчин В.П., Моисеев П.И. // Клиническая онкология: Сб. науч. работ. – Минск, 1999. – С. 102–108.

7. Машевский А.А., Муравский В.А. // Актуальные проблемы онкологии и мед. радиологии: Сб. науч. работ. – Минск, 1993. – С. 31–33.
8. Никифорова Н.В., Ходырева Л.А., Кирпатовский В.Н., Чумаков А.М. // Бюл. экспер. биол. и мед. – 2001. – Т. 132, № 11. – С. 565–568.
9. Ракита Д.Р. Свободнорадикальный статус в клинике внутренних болезней и возможности его коррекции: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Рязань, 1999.
10. Тюляндин С.А. // Практ. онкол. – 2000. – № 3. – С. 43–48.
11. Федорова Т.Н., Коршунова Т.С., Ларский Э.Г. // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 25–27.
12. Черняускене Р.Ч., Варшкявичене З.З., Грибаускас П.С. // Лаб. дело. – 1984. – № 6. – С. 362–365.
13. Astashkin A.V., Kozlyuk W., Raitsimring A.M. // J. Magn. Reson. – 2000. – Vol. 145, № 2. – P. 357–63.
14. Epel B., Sluttr C.S., Nuse F. et al. // J. Magn. Reson. – 2000. – Vol. 156, № 1. – P. 113–21.
15. Hubbell W.L., Cafiso D.S., Altenbach C. // Nat. Struct. Biol. – 2000. – Vol. 7, № 9. – P. 735–9.
16. Kruk I./ Michalska T., Kladna A. Aboul-Enein H.Y. // Biopolymers. – 2002. – Vol. 65, № 2. – P. 89–94.
17. Livshits V.A., Marsh D. // J. Magn. Reson. – 2000. – Vol. 145, № 2. – P. 84–94.
18. Osterloh K., Ewert U., Pries A.R. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2002. – Vol. 283, № 1. – P. 398–405.
19. Patel R.N., Kumar S., Pandeya K.B. // Spectrochim Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. – 2002. – Vol. 56, № 14. – P. 2791–97.
20. Steinhoff H.J. // Front Biosci. – 2002. – Vol 1, № 7. – P. 97–110.

Поступила 08.11.2004 г.